

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 10148628
PUBLICATION DATE : 02-06-98

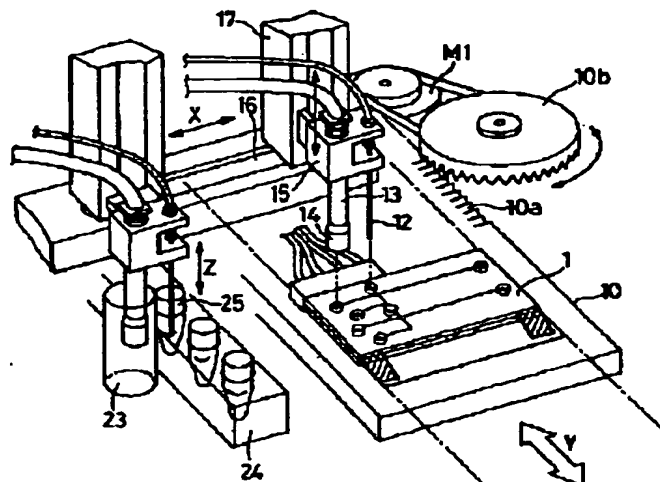
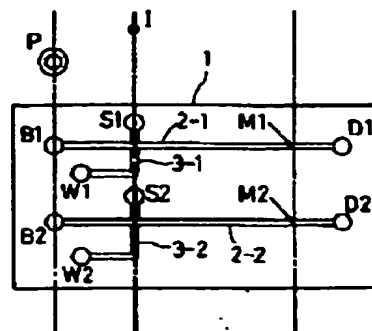
APPLICATION DATE : 19-11-96
APPLICATION NUMBER : 08324729

APPLICANT : SHIMADZU CORP;

INVENTOR : ARAI AKIHIRO;

INT.CL. : G01N 27/447

TITLE : MICROCHIP ELECTROPHORESIS
DEVICE



ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To automate the operation of electrophoresis of a microchip.

SOLUTION: In a microchip 1 in a dry state, a sample injecting opening S1 and an electrophoresis liquid reservoir B1 are positioned at a location P, where a rod 13 is lowered and at a location I, where a needle 12 is lowered respectively by the movement of a tray 10 in Y directions. After the needle 12 and rod 13 are each lowered to the locations I and P on the microchip 1 to fill a separating channel 2-1 and sample introducing channel 3-1 with a electrophoresis liquid, A sample is injected into the sample injection opening S1 from a syringe 22. Then the needle 12 and rod 13 are raised, and the tray 10 on which the microchip 1 is fixed is again moved in Y directions to match the detection point M1 of the channels to the location of a part to be detected and to perform a regular analysis.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

THIS PAGE BLANK (USPTO)

XP-002222636

AN - 1998-371998 [32]

AP - JP19960324729 19961119

CPY - SHMA

DC - B04 J03 S03

FS - CPI;EPI

IC - G01N27/447

MC - B04-E01 B04-N04 B11-C08D1 B12-K04 J03-C

- S03-E03E

M1 - [01] M423 M424 M740 M750 M903 N102 Q435 V752 V753

M6 - [02] M903 Q435 R515 R528 R637

PA - (SHMA) SHIMADZU CORP

PN - JP10148628 A 19980602 DW199832 G01N27/447 007pp

PR - JP19960324729 19961119

XA - C1998-113538

XIC - G01N-027/447

XP - N1998-291651

AB - J10148628 The apparatus has a microchip (1) consisting of a set of transparent tubular members. A groove and a through-hole are arranged in the two tubular members, respectively. A liquid isolation path and a sample introduction flow path are formed along the surface of the microchip. A moving liquid and a sample liquid are introduced into the isolation sample flow paths respectively, by a set of injection devices (12,13). A predefined voltage is applied to the isolation path and the sample is isolated among ends of the isolation flow path. The chip is moved in parallel direction by a moving mechanism. The second injection device consists of a needle, which supplies sample onto the injection hole along vertical direction. The first injection device consists of a feed hopper, which supplies moving liquid along vertical direction. The two injection devices are moved along locus of injection holes. A controller adjusts drive units of the first and the second injection devices such that the two devices are positioned corresponding to predefined detection points of the microchip.

- USE - The apparatus is used for protein, nucleic acid e.g. DNA sample analysis.

- ADVANTAGE - The apparatus performs reliable electrophoresis operation and eases movement of two injection devices.

- (Dwg.6/7)

IW - ELECTROPHORESIS APPARATUS PROTEIN NUCLEIC ACID DNA SAMPLE ANALYSE
CONTROL REGULATE OPERATE DRIVE UNIT FIRST SECOND INJECTION DEVICE
POSITION CORRESPOND PREDEFINED DETECT POINT FORMING

IKW - ELECTROPHORESIS APPARATUS PROTEIN NUCLEIC ACID DNA SAMPLE ANALYSE
CONTROL REGULATE OPERATE DRIVE UNIT FIRST SECOND INJECTION DEVICE
POSITION CORRESPOND PREDEFINED DETECT POINT FORMING

NC - 001

OPD - 1996-11-19

ORD - 1998-06-02

PAW - (SHMA) SHIMADZU CORP

TI - Electrophoretic apparatus using microchip for protein, nucleic acid such as DNA sample analysis - has controller which regulates operation of drive units such that first and second injection devices

are positioned corresponding to predefined detection points formed on

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-148628

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月2日

(51) Int. Cl.

G 0 1 N 27/447

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

3 3 1 E

3 3 1 H

審査請求 未請求 請求項の数1 FD (全 7 頁)

(21) 出願番号

特願平8-324729

(22) 出願日

平成8年(1996)11月19日

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72) 発明者 荒井 昭博

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

株式会社島津製作所三条工場内

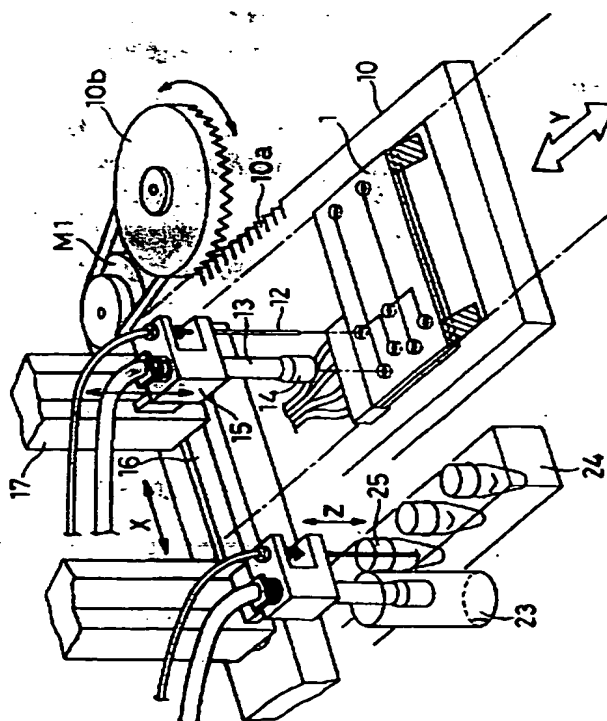
(74) 代理人 弁理士 野口 繁雄

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ電気泳動装置

(57) 【要約】

【課題】 マイクロチップ電気泳動の操作を自動化する。

【解決手段】 3ドライ状態のマイクロチップ1は、トレイ10がY方向に移動することにより試料注入口S1と泳動液リザーバB1がそれぞれロッド13が降下する位置Pとニードル12が降下する位置Iに位置決めされる。ニードル12とロッド13がそれぞれI、Pの位置でマイクロチップ1上に降下して、分離流路2-1と試料導入流路3-1が泳動液で満たされた後、シリンジ22から試料が試料注入口S1に注入される。その後、ニードル12とロッド13が上昇させられ、マイクロチップ1を固定したトレイ10が再度Y方向に移動し、流路の検出点M1を検出部の位置に合わせにいき、従来どおりの分析が行なわれる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、他方の板状部材にはその溝に対応する位置に貫通穴が設けられ、これら板状部材が前記溝を内側にして張り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路が形成されているマイクロチップを用い、分離流路に泳動液を満たし、試料導入流路から分離流路に試料を導入し、分離流路の両端間に泳動電圧を印加して試料を分離流路で電気泳動分離させるマイクロチップ電気泳動装置において、

前記マイクロチップを前記平行線に平行に移動させる移動機構と、

試料を供給するニードルが前記試料注入孔の移動軌路上で上下に移動して試料注入孔に試料を注入する試料注入機構と、

泳動液を供給する泳動液供給口が前記泳動液注入孔の移動軌路上で上下に移動して泳動液注入孔に泳動液を注入する泳動液注入機構と、

前記試料注入孔を試料注入機構の前記ニードル直下の位置、前記泳動液注入孔を泳動液注入機構の泳動液供給口直下の位置、及び前記検出点を検出部の位置にそれぞれ位置決めするように前記移動機構によるマイクロチップの移動の制御、並びに前記試料注入機構と前記泳動液注入機構の動作の制御を行なう制御部と、を備えたことを特徴とするマイクロチップ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、極微量のタンパク質や核酸などを高速、かつ高分解能に分析する装置に関し、更に詳しくは、一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、他方の板状部材にはその溝に対応する位置に貫通穴が設けられ、これら板状部材が前記溝を内側にして張り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路が形成されているマイクロチップを用い、分離流路に泳動液を満たし、試料導入流路から分離流路に試料を導入し、分離流路の両端間に泳動電圧を印加して試料を分離流路で電気泳動分離させるマイクロチップ電気泳動装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】極微量のタンパク質や核酸などを分析する場合には、従来から電気泳動装置が用いられており、その代表的なものとしてキャピラリー電気泳動装置がある。キャピラリー電気泳動装置は、内径が $50\mu\text{m}$ 程度又はそれ以下のガラスキャピラリー内に泳動バッファを充填し、一端側に試料を導入した後、両端間に高電圧を印加して分析対象物をキャピラリー内で展開させるものである。キャピラリー内は容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことから、高電圧の印加が可能

となり、DNAなどの極微量試料を高速、かつ高分解能にて分析することができる。

【0003】キャピラリーはその外形が数 $10\mu\text{m}$ ～ $100\mu\text{m}$ 程度と細く破損しやすいため、ユーザーが行なうべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でない問題を有する。そのため、D. J. Harrison et al./ Anal. Chim. Acta 283 (1993) 361-366に示されているように、2枚の基板を接合して形成されたキャピラリー電気泳動チップ（マイクロチップという）が提案されている。そのマイクロチップの例を図1に示す。一対の透明ガラス基板51、52からなり、一方の基板52の表面にエッチングにより互いに交差する泳動用キャピラリー溝54、55を形成し、他方の基板51にはその溝54、55の端に対応する位置に貫通穴53を設けたものである。

【0004】このマイクロチップを使用するときは、両基板51、52を（C）に示すように重ね、いずれかの貫通孔53から泳動液を溝54、55中に注入する。その後、短い方の溝54の一方の端の貫通孔53に試料を注入しその溝54の両端の貫通孔53、53間に電極を差し込んで所定時間だけ高電圧を印加する。これにより、試料は溝54中に分散される。

【0005】次に、長い方の溝55の両端の貫通孔53、53に電極を差し込み、泳動電圧を印加する。これにより、両溝54、55の交差部分56に存在する試料が溝55内を電気泳動する。溝55の適当な位置に紫外可視分光光度計、蛍光光度計、電気化学検出器等の検出器を配置しておくことにより、分離成分の検出を行なう。このようなマイクロチップを用いた電気泳動は、高速動作が可能、極微量分析が可能、小型などの特徴を持つことが知られており、その装置化技術が進歩すれば、これまでにないユニークな分析装置となる可能性を秘めている。

【0006】これまでのマイクロチップを用いた技術では、分析前に必要不可欠な泳動液用の貫通孔53から流路54、55への泳動液の充填、及び試料注入用の貫通孔53への試料の注入は全て手操作によっている。泳動液用の貫通穴は泳動液のリザーバの役割を果たし、試料を注入する貫通穴は試料容器に相当する。分析前の操作として、泳動液をどれか一つの貫通穴53からシリンジなどで手で送液し、試料は試料導入用の溝54の一端の貫通穴53から別のシリンジで注入している。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】泳動液の充填や試料注入の操作は、煩雑であるだけでなく、泳動液や試料の注入も含めた全体の分析時間を長くする結果となり、秒単位で分離が可能というマイクロチップ電気泳動の特徴を活かすことにならない。そこで、本発明はマイクロチップ電気泳動の操作を自動化して容易にすることを目的とするものである。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明のマイクロチップ電気泳動装置では、マイクロチップへの泳動液の充填と試料注入を自動化するために、マイクロチップを上記の平行線に平行に移動させる移動機構と、試料を供給するニードルがマイクロチップの試料注入孔の移動軌路上で上下に移動して試料注入孔に試料を注入する試料注入機構と、泳動液を供給する泳動液供給口がマイクロチップの泳動液注入孔の移動軌路上で上下に移動して泳動液注入孔に泳動液を注入する泳動液注入機構と、試料注入孔を試料注入機構のニードル直下の位置、泳動液注入孔を泳動液注入機構の泳動液供給口直下の位置、及び検出点を検出部の位置にそれぞれ位置決めするように移動機構によるマイクロチップの移動の制御、並びに試料注入機構と泳動液注入機構の動作の制御を行なう制御部とを備えている。

【0009】流路に泳動液が充填されていないドライの状態で、マイクロチップが移動機構に装着され、動作が開始されると、移動機構によりマイクロチップの試料注入孔と泳動液注入孔がそれぞれ試料供給用ニードル直下と泳動液供給口直下に位置決めされる。試料供給用ニードルと泳動液供給口がマイクロチップへ降下し、泳動液の充填と試料注入が行なわれる。

【0010】その後、試料供給用ニードルと泳動液供給口がともに上昇し、マイクロチップは移動機構により移動させられて検出点が検出部の位置に位置決めされ、分析が行なわれる。分析終了後、マイクロチップはさらに移動機構により移動させられて未使用の流路を用いて、同様に泳動液の充填、試料注入、分析が繰り返される。

【0011】

【実施例】図2に、一実施例で使用するマイクロチップを示す。マイクロチップ1は図1に示されたものと同様に、一対の透明ガラス基板の一方の表面にエッチングにより互いに交差するキャピラリー溝2-1、3-1の組と、2-2、3-2の組を形成し、他方の基板にはそれらの溝の端に対応する位置に貫通穴B1、D1、S1、W1、B2、D2、S2、W2を設けたものである。キャピラリー溝2-1は分離流路でその両端に泳動液リザーバB1、D1がそれぞれ配置され、キャピラリー溝3-1は試料導入流路でその一端に試料注入孔S1、他端に試料廃液溜めW1が配置されている。この2つの流路2-1と3-1の組を1組目の流路セットとし、それらの流路2-1と3-1の交差部分の体積の試料が分析される。同様にキャピラリー溝2-2は分離流路でその両端に泳動液リザーバB2、D2がそれぞれ配置され、キャピラリー溝3-2は試料導入流路でその一端に試料注入孔S2、他端に試料廃液溜めW2が配置されている。この2つの流路2-2と3-2の組を2組目の流路セットとし、それらの流路2-2と3-2の交差部分の体積の試料が分析される。

【0012】このマイクロチップ1では2組の流路の組が形成されており、各組の試料注入孔S1とS2、泳動液リザーバD1とD2、検出点M1とM2はそれぞれ同じ直線上に配置されており、それらの直線は互いに平行である。それらの直線の方をY方向とする。マイクロチップ1は、後述の移動機構によりその直線方向(Y方向)に移動させられる。

【0013】図3(A)、(B)は各貫通穴B1、D1、S1、W1、B2、D2、S2、W2に電圧を印加するための電極パターン4を示したものである。(A)は平面図、(B)はそのA-A'線位置での断面図である。各貫通穴につながる電極パターン4は1ヶ所のコネクタ部5に集約され、コネクタ部5から電源装置に接続することにより操作性を向上させている。電極パターン4はマイクロチップ1の表面に蒸着などの方法により形成したものである。

【0014】図3の例では、同じ機能をもつリザーバどうしが導通しているため、同じ機能をもつリザーバには同時に電圧が印加される。そのため、1つの流路セットに試料を注入した後、その流路セットの泳動を行ない、その後次の流路セットに試料を注入するというように、同じマイクロチップの流路セットであっても試料注入をまとめて行なっておくことはできない。

【0015】一方、図4は流路セットごとに別の電極が設けられた例である。この例では、各流路セットで独立した端子が使われるので、マイクロチップの両方の流路セットに試料を注入しておき、順次に電圧を印加して泳動を行なうことができる。1つのマイクロチップに設ける流路セットの数は2つに限らない。図5(A)のように1組であってもよく、(B)のように3組以上であってもよい。

【0016】図6と図7により一実施例を示す。10はマイクロチップローディング用トレイであり、マイクロチップ1を装着して固定することができる。トレイ10はY方向に移動できるように支持されている。トレイ10の側部にはギア10aが形成され、そのギア10aが、モータM1により回転が駆動されるギア11bと噛み合っていることにより、トレイ10がY方向に移動する。トレイ10の移動によりマイクロチップ1の試料注入孔S1とS2が試料注入用ニードル12が降下する位置Iに、泳動液リザーバB1とB2が泳動液加圧送液用ロッド13が降下する位置Pに、検出点M1とM2が検出部の位置にそれぞれ位置決めされる。

【0017】泳動液供給口をもつロッド13はその先端にマイクロチップ1の表面と接触して気密性を保つためのシール部材14を備えている。ニードル12とロッド13は1つのブロック15に固定され、そのブロック15はX方向に移動するXマウント16と、上下方向に移動するZマウント17のアームによって、X方向の水平移動と垂直方向の上下移動可能に支持されている。

【0018】ロッド13とブロック15の間には、先端のシール部材14を適度の圧力でマイクロチップ1の表面に押しつけるためのバネ18が設けられており、ニードル12とブロック15の間には、ニードル12の先端をマイクロチップ1の試料注入口S1、S2の底部に接触させるための弱いバネ19が設けられている。

【0019】ロッド13の基端部はバルブ21を介して泳動液を吸入しているシリンジ20に接続されている。バルブ21が開かれ、シリンジ20が押し込まれることによりロッド13の先端から泳動液が吐出される。ロッド13、シール部材14、バルブ21及びシリンジ20により泳動液注入機構を構成している。ニードル12の基端部はシリンジ20に接続されており、そのシリンジ20により試料を吸入し、吐出できるようになっている。

【0020】トレイ10の側方には洗浄瓶23とサンプルトレイ24に配置された試料容器25が配置されており、洗浄瓶23にはロッド13とニードル12がそれぞれ移動してきて浸されて洗浄され、試料容器25にはニードル12が移動してきて浸されて試料吸引がなされる。試料容器25には標準試料又は分析試料が収容され、ニードル12には1μl程度の試料が吸引される。

【0021】モータM1、Xマウント16、Zマウント17、シリンジ20、22、及びバルブ21の動作は駆動回路26によりなされ、その駆動回路26は制御部に該当するCPUにより制御されている。なお、図6ではニードル12とロッド13の組が2組あるように描かれているが、実際には1組のみが備えられており、図は移動した状態を表わしたものである。

【0022】次に、この実施例の動作について説明する。トレイ10にドライ状態のマイクロチップ1を装着し、動作を開始させると、モータM1によりトレイ10がY方向に移動させられ、マイクロチップ1の試料注入口S1と泳動液リザーバB1がそれぞれロッド13が降下する位置Pとニードル12が降下する位置Iに位置決めされる。一方、ニードル12が試料容器25から試料を吸入した後、ニードル12とロッド13がそれぞれI、Pの位置に移動する。ニードル12とロッド13はマイクロチップ1上に降下して、ロッド13はバネ18により先端のシール部材がマイクロチップ1の表面に押しつけられ、ニードル12の先端はバネ19により試料注入口S1の底部に接触させられる。その状態でシリンジ20により泳動液が送液され、マイクロチップ1の分離流路2-1と試料導入流路3-1が泳動液で満たされた後、シリンジ22から試料がニードル12により試料注入口S1に注入される。

【0023】その後、Zマウント17によりニードル12とロッド13が上昇させられ、マイクロチップ1を固定したトレイ10が再度Y方向に移動し、流路の検出点M1を検出部の位置に合わせにいく。分析は従来どお

り、試料注入口S1と試料廃液溜めW1に電圧を所定時間印加し、次いで泳動液リザーバB1とD1に電圧を切り換えることで、両流路2-1と3-1の交差部分のサンプルが分離流路2-1方向にプラグ状で導入され、分離されて検出される。

【0024】ニードル12とロッド13は洗浄瓶23の方向に移動し、まずニードル12が洗浄瓶23で洗浄された後、ロッド13が洗浄瓶23に、ニードル12が試料容器25にそれぞれ挿入され、ロッド13の洗浄とニードル12への次の試料の吸入がなされる。

【0025】モータM1によりトレイ10が再度Y方向に移動させられ、マイクロチップ1の試料注入口S2と泳動液リザーバB2がそれぞれロッド13が降下する位置Pとニードル12が降下する位置Iに位置決めされ、1組目の流路セットへの泳動液の充填、試料注入、分析と同様にして、2組目の流路セットへの泳動液の充填、試料注入、分析が行なわれる。

【0026】本発明は、他の局面として次のものを含んでいる。マイクロチップは互いに交差する分離流路と試料導入流路の組を少なくとも2組備えており、かつそれらの組の泳動液注入孔、試料導入流路の試料注入孔、及び検出点が互いに平行な線上に位置するように配置されたものである。さらに、実際の分析では標準試料と実試料の最低2回は分析する必要があるため、試料導入路と分離流路を1組のみ備えたマイクロチップでは、分析途中で流路をいったん洗浄する必要があり、マニュアル操作では更に時間を要する結果となる。

【0027】そこで、マイクロチップに2組以上の流路セットが設けられている場合には、1組目の流路セットで標準試料を分析し、他の流路セットで未知試料を分析するように使用することができると、同一のマイクロチップで複数の試料を順次連続して分析することが可能になる。マイクロチップの流路に泳動液が充填され、試料が注入された後は、分析に要する時間は極めて短いため、標準試料と未知試料を1枚のマイクロチップの別々の流路で分析する場合でも、全体としての分析時間は短かくてすむ。

【0028】

【発明の効果】本発明では、マイクロチップを移動させる機構、マイクロチップの流路に泳動液を自動的に供給する機構、及びマイクロチップの流路に試料を自動的に注入する機構を備えたので、マイクロチップを用いた電気泳動操作を容易に行なうことができるようになる。また、マイクロチップを分離流路に対して直交する方向に移動させることにより、検出点の位置決め機構を兼ねることができ。

【図面の簡単な説明】

【図1】従来のマイクロチップを示す図であり、(A)と(B)はマイクロチップを構成する透明板状部材を示す平面図、(C)は正面図である。

【図2】一実施例で使用するマイクロチップを示す平面図である。

【図3】図2のマイクロチップの各貫通穴に電圧を印加する電極パターンの一例を示す図であり、(A)は平面図、(B)は(A)のA-A'線位置での断面図である。

【図4】図2のマイクロチップの各貫通穴に電圧を印加する電極パターンの他の例を示す平面図である。

【図5】(A)と(B)はそれぞれ各貫通穴に電圧を印加する電極を備えたマイクロチップの他の例を示す平面図である。

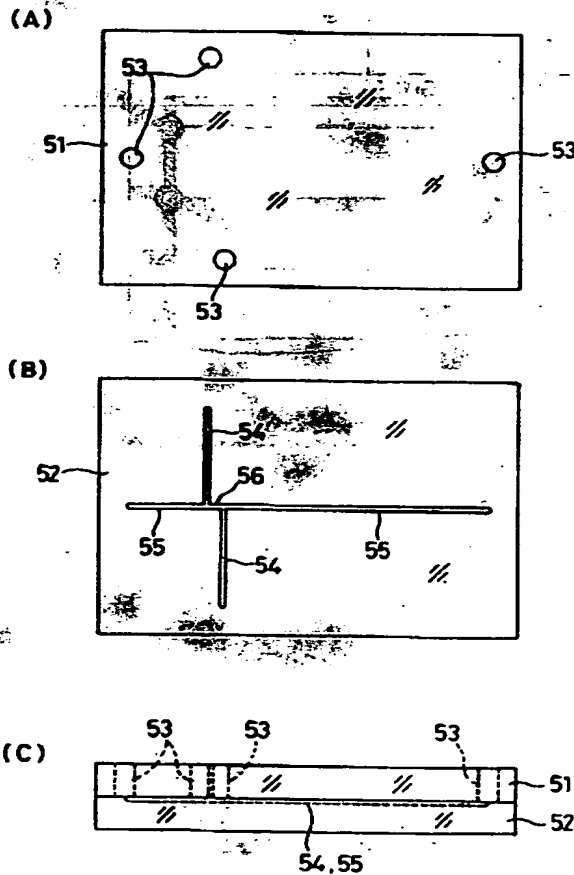
【図6】一実施例を示す斜視図である。

【図7】同実施例の制御系を示す概略構成図である。

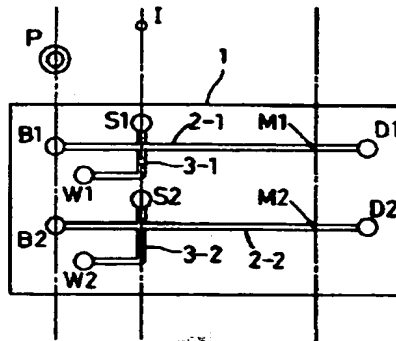
【符号の説明】

- 1 マイクロチップ
- 2-1, 2-2 分離流路
- 3-1, 3-2 試料導入流路
- 4 電極パターン
- 5 コネクタ部
- 10 マイクロチップローディング用トレイ
- 12 試料注入用ニードル
- 13 泳動液加圧送液用ロッド
- 16 Xマウント
- 17 Zマウント
- 20, 22 シリンジ
- 26 駆動回路
- B1, B2 泳動液リザーバ
- S1, S2 試料注入口

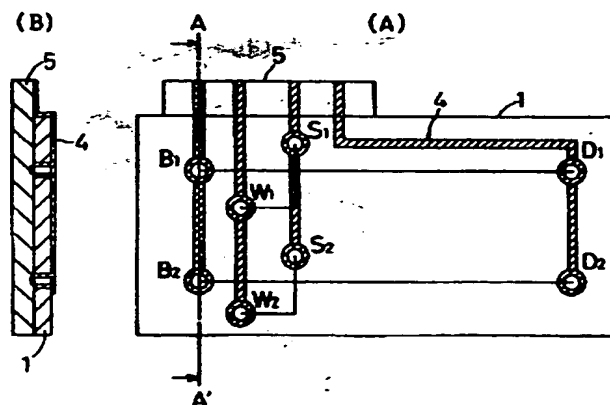
【図1】



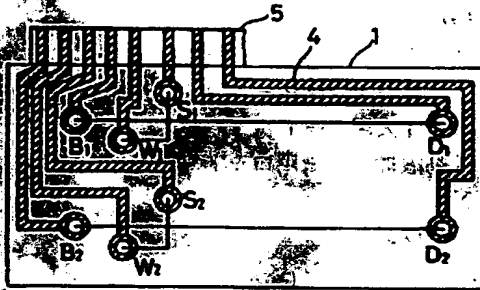
【図2】



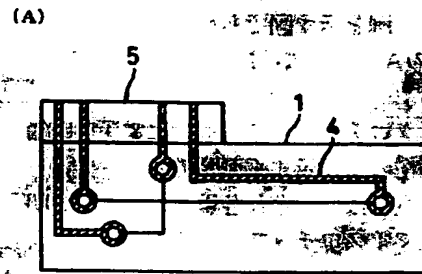
【図3】



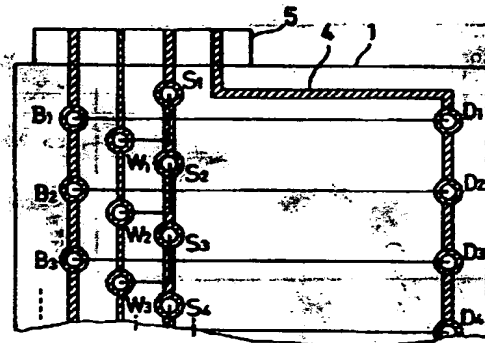
【図4】



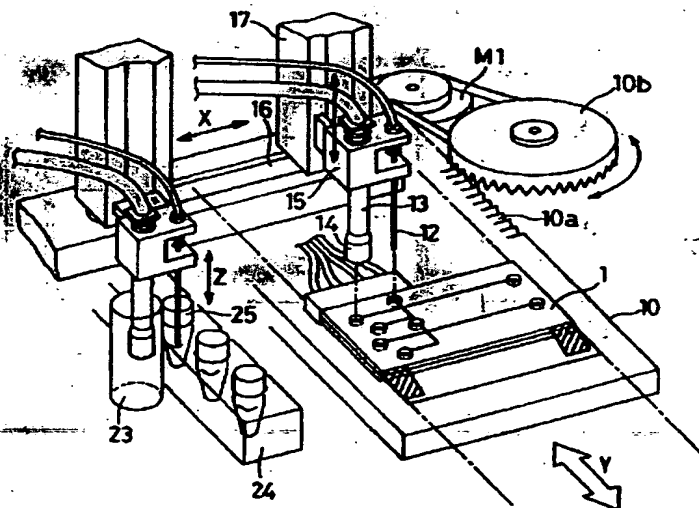
【図5】



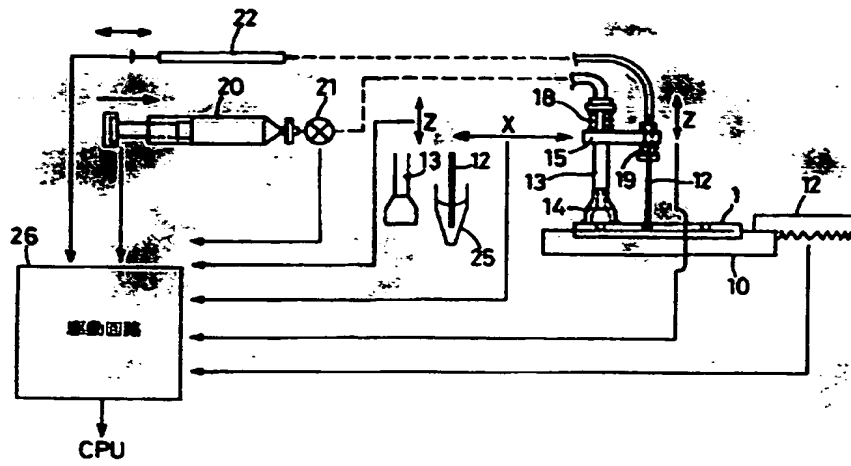
(B)



【図6】



【図7】



THIS PAGE BLANK (USPTO)